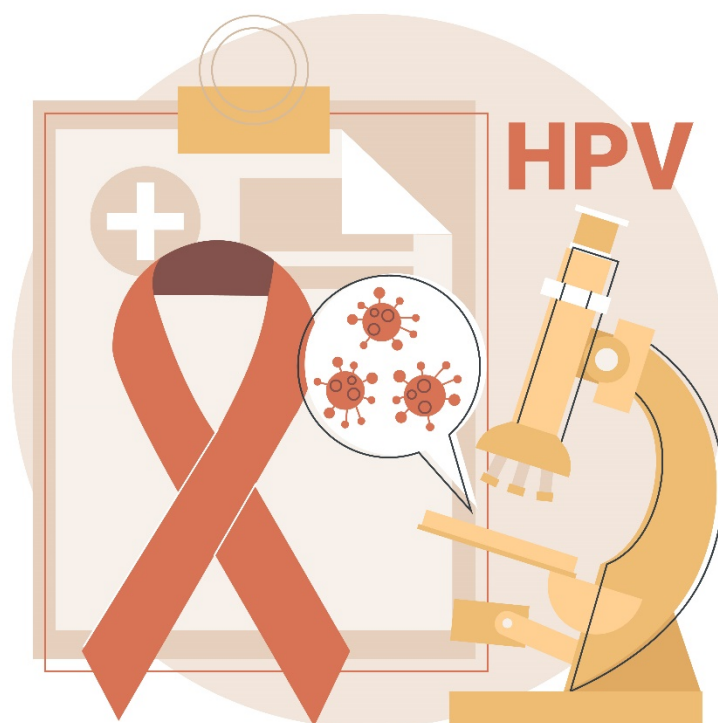


Testovanie HPV počas skríningu rakoviny krčka maternice

metódou Real-Time PCR



Rakovina krčka maternice

Rakovina krčka maternice je jedným z najčastejších zhubných nádorov u žien: ročne sa vo svete deteguje viac ako 500 tisíc nových prípadov, viac ako polovica z nich je smrteľná.



Príčinou rakoviny krčka maternice je v 95-99% prípadov HPV – ľudský papillomavírus



Viac ako 80 % žien sa nakazí HPV počas prvých rokov po začiatku sexuálnej aktivity



U 80 % infikovaných sa vírus z tela vylúči do 2 rokov



Asi v 10 % prípadov sa infekcia stáva chronickou s rizikom prekancerózných lézií a invazívneho karcinómu krčka maternice.

V súlade s WHO

Sú typy HPV

klasifikované

podľa stupňa

ich onkogenity.

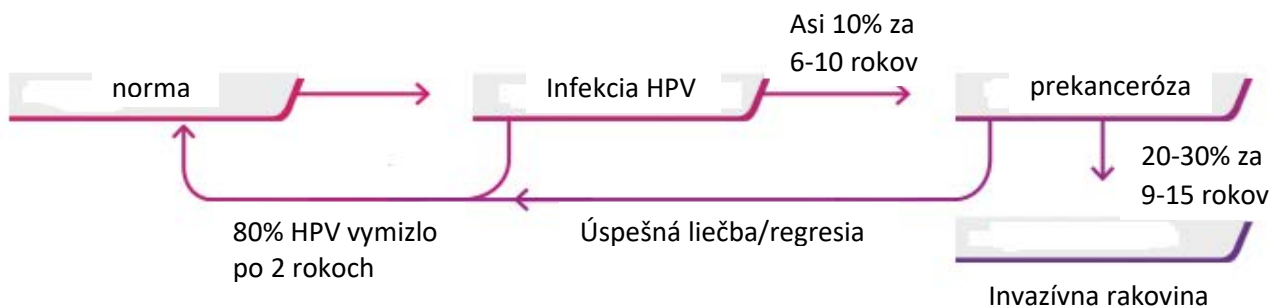
Typy vysokého karcinogénneho rizika: 16 a 18 - najviac onkogénne; 31, 33, 35, 39, 45, 51,

Typy nízkeho karcinogénneho rizika: 6, 11, 42, 43, 44

Typy pravdepodobného karcinogénneho rizika: 26, 53, 67, 70, 73, 82

Iné:
asi 200 druhov

Vo väčšine prípadov sa rakovina krčka



a maternice vyvíja dlhodobo, bez prejavov klinických príznakov. Ochorenie sa zistí v neskorých štádiách, keď je percento zotavenia pacientov extrémne nízke.

Rakovine krčka maternice sa dá úspešne predchádzať a ak sa zistia zmeny v prekanceróznom štádiu.

WHO vyvinula súbor preventívnych opatrení zameraných na zníženie výskytu a úmrtnosti na rakovinu krčka maternice:

Primárna prevencia

- Očkovanie proti HPV pre deti vo veku od 9 do 14 rokov
- Zdravotná výchova, sexuálna výchova detí a dospelých

Sekundárna prevencia

Skríning rakoviny krčka maternice od 21 do 69 rokov:

- HPV testovanie
- Cytológia

Včasná liečba prekancerózných lézií

Terciárna prevencia

Liečba rakoviny krčka maternice pre všetky ženy, ak je to potrebné:

- Chirurgická liečba
- Rádioterapia
- Chemoterapia

Laboratórne diagnostické metódy pri skríningu rakoviny krčka maternice:

Cytologická metóda: vyšetrenie sterov odobratých z krčka maternice a cervikálneho kanála

- Hlavná metóda cervikálneho skríningu kvôli dostupnosti a pomerne vysokej špecificite (63-99%) na detekciu prekancerózných zmien
- Má nízku citlivosť (50-70%) v dôsledku nesprávneho odberu vzoriek biomateriálu a subjektívneho hodnotenia výsledkov, ako aj prítomnosti vzoriek s ťažko klasifikovateľnými cytologickými zmenami
- Variantom cytologickej metódy je tekutá cytológia, ktorá umožňuje lepšie vyšetrenie liečiva

PCR metóda: detekcia typov DNA HPV s vysokým karcinogénnym rizikom vo výteroch odobratých z krčka maternice a cervikálneho kanála. **Uskutočnenie tohto testovania môže výrazne zvýšiť účinnosť skríningu krčka maternice!**

- ✓ Zvýšenie citlivosti štúdie na 96,7 %: Signifikantne viac detegovaných prekancerózných lézií v porovnaní so samotnou cytológiou
- ✓ Predĺženie intervalov medzi opakovanými štúdiami až na 5 rokov
- ✓ Znižovanie ekonomických nákladov na skríning



Odber biomateriálu na detekciu DNA HPV a na cytologické vyšetrenie sa môže vykonávať súčasne. Na analýzu PCR možno použiť tekuté cytologické médiá.*

Odporúča sa nasledujúci cervikálny skríningový prístup*

Skríning je vhodný pre všetky ženy vo veku 21 až 69 rokov. Do 29 rokov je dovolené len cytologické vyšetrenie raz za 3 roky kvôli vysokému riziku infekcie HPV, ale nízkej pravdepodobnosti vzniku patológie. Od 30 do 69 rokov života ženy je potrebné vykonať cytologické vyšetrenie a testovanie HPV aspoň raz za 5 rokov. Tieto testy sa môžu vykonávať paralelne.

Vlastnosti použitia metódy PCR pri diagnostike infekcie HPV

- Vysoká citlivosť metódy a významná prediktívna hodnota negatívneho výsledku testu. Zároveň nízka špecifickosť, pretože nie vždy prítomnosť HPV vedie k rakovine krčka maternice v budúcnosti
- Možnosť aplikácie v ktoromkoľvek štádiu skríningu rakoviny krčka maternice
- V prípade potreby umožňuje analýza PCR genotypizáciu a stanovenie vírusovej záťaže
- Testovanie na prítomnosť DNA HPV je potrebné v prípade nejednoznačných výsledkov cytológie**

Technológia RealBest na testovanie HPV pri kombinovanom skríningu rakoviny krčka maternice

Použitie jednej biologickej vzorky na testovanie HPV a Liquid based cytológiu (LBC)

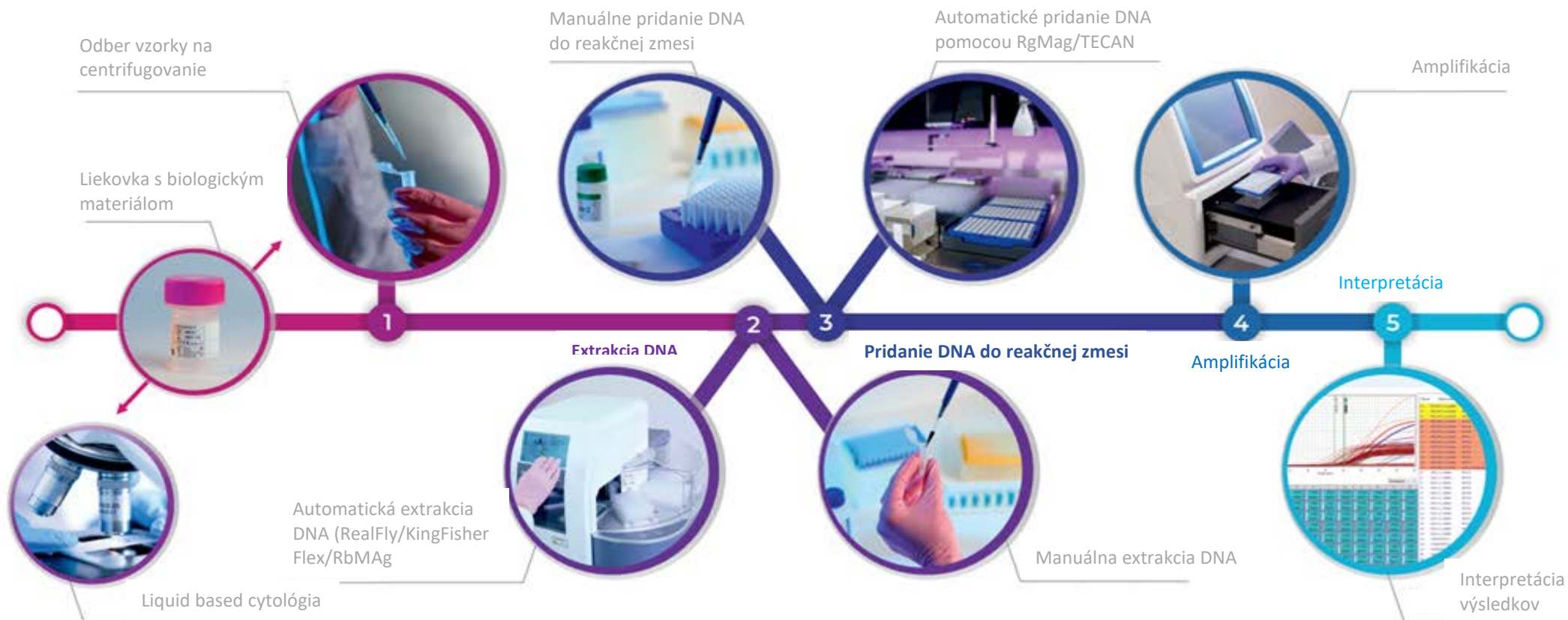
Detekcia vysokorizikových HPV, genotypizácia a stanovenie vírusovej záťaže

Vysoká prietoková schopnosť vďaka platničkovému formátu a reakčnej zmesi pripravenej na použitie

Užívateľsky dobrý softvér

Automatizácia jedného alebo viacerých krokov analýzy

Servisná a metodická podpora



Na pridanie vzoriek a reagensí do vysokoprofilových skúmaviiek a tiež vyzolovanej DNA do pripravenej reakčnej zmesi je možné použiť:

- automatickú pipetovaciu stanicu RbMag/RealBest/TECAN Freedom Evo
- multikanálové pipety

Odporúčania k odberu biomateriálu

1. Nerobte výter počas liečby genitálnych infekcií.
2. Testovanie by sa malo vykonať najmenej 48 hodín po:
 - sexuálnom styku, konci menštruácie;
 - predĺženej kolposkopii s liečbou 3-5% roztokom kyseliny octovej alebo Lugolu;
 - používaní lubrikantov, tampónov alebo spermicídov.
3. Pred bimanuálnym vyšetrením sa musí odobrať ster.
4. Pred odberom biomateriálu očistite vonkajší otvor cervikálneho kanála od hlienovej zátky a vaginálnych sekrétov sterilným tampónom.



Odber steru na PCR analýzu

Odber sa robí pomocou urogenitálnej sondy alebo cytobrush. Pracovnú časť cytobrush/sondy obsahujúcu testovaný materiál opláchnite v skúmavke s transportným roztokom, pritlačte k stenám skúmavky a zlikvidujte ju. Skúmavku pevne zatvorte vekom.

Teplota a doba skladovania:

- (18–26) °C nie viac ako 2 dni;
- (2–8) °C nie viac ako 2 týždne;
- mínus (18–40) °C nie dlhšie ako 2 mesiace, pod mínus 40 - dlhodobo.

Opakované zmrazovanie a rozmrazovanie vzoriek nie je povolené.



Odber biologického materiálu na Liquid based cytológiu a PCR

Vykonáva sa pomocou cervikálnej kefky s ektocervikálnou a endocervikálnou zložkou. Odnímateľnú hlavicu kefky spolu s odobratým materiálom vložte do liekovky so stabilizačným roztokom, liekovku pevne zatvorte.

Je uvedená teplota a doba skladovania v pokynoch pre cytologické médium. *Zmrazovanie vzoriek nie je povolené.*

Kontrola odberu biomateriálu

Pri testovaní sterov epitelových buniek existuje možnosť získať falošne negatívny výsledok v prípade nedostatočného množstva biomateriálu.

Na zvýšenie spoľahlivosti PCR analýzy sa odporúča použiť súpravu „**RealBest Validácia vzorky**“:



Používa sa na stanovenie dostatočného obsahu ľudskej DNA v epitelálnych steroch.



Umožňuje v prípade potreby určiť relatívne množstvo patogénu vo vzorke.

Technológia RealBest®: riešenie pre testovanie HPV počas skrínungu rakoviny krčka maternice

Odber biomateriálu

8894/8885 Transportný roztok (na PCR)

8899 RealBest DNA express

Extrakcia DNA

Manuálna:

8899 RealBest DNA express

8896 RealBest extrakcia 100*

Automatická:

8883 RealBest UniMag*

Skrínung



8444 RealBest DNA HPV Screen
Detekcia DNA 14 genotypov vysokorizikových HPV (bez genotypizácie): 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68

8498 RealBest HPV Oncoscreen
Detekcia DNA 14 genotypov vysokorizikových HPV: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68 s diferenciáciou genotypov 16 a 18 a stanovením celkového obsahu ľudskej DNA vo vzorke

Genotypizácia DNA HPV s kvantifikáciou



8478 RealBest DNA HPV HR genotype quantitative

Diferenciálna detekcia a kvantifikácia DNA 12 typov vysokorizikových HPV: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 a 59

Genotypizácia HPV



8475 RealBest DNA HPV 6/11
8473 RealBest DNA HPV 16/18
8459 RealBest DNA HPV 26/51
8471 RealBest DNA HPV 31/33
8469 RealBest DNA HPV 35/45
8447 RealBest DNA HPV 44
8448 RealBest DNA HPV 66
8488 RealBest DNA HPV 68
8449 RealBest DNA HPV 26/53/66
8451 RealBest DNA HPV 68/73/82
8446 RealBest DNA HPV 6/11/44

Validácia



8888 RealBest Validácia vzorky
Kvantitatívne hodnotenie obsahu ľudskej DNA

* súprava je vhodná na extrakciu DNA z biomateriálu, odobratého do média na Liquid based cytológiu

Formát súprav je navrhnutý na vykonanie 96 testov, kompatibilný s platňovými zosilňovačmi

Diagnostické centrum DNK, s.r.o.

Brestová 14, 821 02 Bratislava

+421 911 299 324, +421 911 211 404

dnk@pharma.sk, diagnostika@pharma.sk

www.pcr.sk